

ÜBER DAS VERHALTEN DER ERYTHROPOETINAKTIVITÄT
DES BLUTES NACH ADERLASSANÄMIE BEIM KANINCHEN
IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ERYTHROPOESESTEIGERUNG

von

Mohammed Taghi Saidi Ghomi

Mainz 1965



Aus der Medizinischen Universitäts-
Poliklinik Mainz

Direktor: Prof. Dr. R. Duesberg

"Über das Verhalten der Erythropoetinaktivität
des Blutes nach Aderlaßanämie beim Kaninchen
in Abhängigkeit von der
Erythropoesesteigerung"

Inauguraldissertation
zur Erlangung der medizinischen
Doktorwürde der Hohen Medizini-
schen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz.

vorgelegt von
Mohammed Taghi Saidi Ghomi
aus Teheran (Iran)

1963

Dekan: Prof. Dr. G.W. K o r t i n g
Referent: Priv.Doiz. Dr. L. F r i e d e r i c i
Korreferent: Prof. Dr. R. D u e s b e r g

Tag der mündlichen Prüfung: 13.12.1965

Einleitung

Bereits um die Jahrhundertwende wurde von CARNOT und DEFLANDRE⁽²⁾ die Vermutung geäußert, daß die Erythropoese durch einen humoralen Faktor im Blut beeinflusst wird. Beide Autoren hatten beobachtet, daß beim Kaninchen nach Injektion von Plasma anämischer Kaninchen eine Vermehrung der Erythrocyten im peripheren Blut auftrat. Diese Befunde wurden von Nachuntersuchern teils bestätigt, teils widerlegt. So konnten LOESCHKE und SCHWARTZER⁽²⁸⁾ nach intraperitonealer Injektion von menschlichem Nabelschnurplasma eine Zunahme der roten Blutkörperchen nachweisen. Auch BONSDORFF⁽¹⁾ gelang es, beim Kaninchen eine Steigerung der Erythropoese zu erzielen, die sowohl nach Injektion von Plasma herzkranker Patienten, als auch durch das Plasma von Kaninchen, die unter erniedrigtem Sauerstoffdruck lebten, ausgelöst werden konnte. Unter dem Eindruck der negativen Resultate von MORAWITZ⁽³¹⁾, FEENDERS⁽⁹⁾, GORDON und DUBIN⁽¹⁵⁾ wurde diesen Ergebnissen wenig Beachtung geschenkt, bis es schließlich REISSMANN⁽³⁶⁾ im Jahre 1950 gelang, bei Parabioseratten durch Erniedrigung des O₂-Gehaltes der Atemluft des einen Partners bei beiden Parabiosetieren eine Steigerung der Erythropoese nachzuweisen. Diese konnte nur durch einen humoralen

Faktor bedingt sein, der von dem unter Sauerstoffmangel leidenden Tier gebildet und auf das unter normalem O_2 -Druck lebende übertragen worden war. Seitdem haben sich verschiedene Arbeitsgruppen, vor allem in den USA, bemüht, die chemischen Eigenschaften des erythropoetischen Wirkstoffs zu analysieren und ihn eventuell rein darzustellen.

ERSLEV⁽⁷⁾ hat angenommen, daß dieser erythropoetisch wirksame Faktor, der sowohl im Serum als auch im Plasma anämischer Tiere vorhanden ist, an Eiweiß gebunden ist und sich wie Albumin, alpha- oder beta-Globulin verhält; denn der nicht dialysierbare Wirkstoff blieb bei der Salzfällung der gamma-Globuline in Lösung. Die Untersuchungen von LINMAN, BETHELL⁽²⁷⁾ und LONG über die Natur und chemischen Eigenschaften der erythropoetischen Plasmafaktoren zeigten, daß im Plasma mindestens zwei erythropoetische Substanzen vorhanden sind. Die eine ist hitzestabil, ätherlöslich und wahrscheinlich ein Lipoid, das auch in der Knochenmarkkultur eine erythropoetische Wirkung entfaltet (FRIEDERICI). Dieser Faktor scheint die Zellteilung zu stimulieren und hat nach den Untersuchungen von LINMAN und BETHELL^(25, 26) keinen Einfluß auf die Hämoglobinbildung. Die andere Substanz ist relativ thermolabil, in Äther unlöslich und wahrschein-

lich ein Protein. Sie erhöht den Eiseneinbau in die Erythroblasten und fördert die Hämoglobinsynthese. PRENTICE und MIRAND⁽³⁴⁾ konnten diese Befunde jedoch nicht bestätigen. Sie fanden bei Ratten nach Injektion von enteiweißten Plasmaextrakten einen Anstieg des Hämatokrits und Hämoglobingehaltes. Hieraus schlossen sie, daß für die Erythropoesesteigerung ein einziger Plasmafaktor verantwortlich ist.

Die Versuche von DELOR und GLEY⁽⁴⁾ zeigten, daß es sich bei der erythropoetisch wirksamen Substanz um ein Steroid handelt, das 3 Keto-Gruppen und eine Alkoholgruppe enthält.

EGLI und KELLER⁽⁵⁾ konnten auch mit 11-Dehydrocortison bei der Ratte eine Steigerung der Reticulocytenwerte erzielen. STOHLMAN und BRECHER⁽³⁹⁾ haben bei der hypophysektomierten Ratte die Reaktion der Erythropoese auf Injektion von Plasmaextrakten und die relative Hitzebeständigkeit des Erythropoetins untersucht. Das Plasma stammte von Ratten, die den Bedingungen großer Höhen ausgesetzt oder mit Phenylhydrazin anämisch gemacht worden waren. Wenn das Plasma 10 min. lang erhitzt wurde, waren 70 bis 90 % der erythropoetischen Aktivität zerstört. Interessant sind auch die Versuche von GURNEY und PAN⁽¹⁹⁾. Sie testeten das Plasma und hitzedenaturierte Plasmaextrakte von

19 Anämiepatienten auf ihren Erythropoetiningehalt. Als Testtiere dienten hypophysektomierte oder hungernde Ratten, bei denen der Fe^{59} -Einbau in die Erythrocyten als Maß für die erythropoetische Aktivität des zu prüfenden Plasmas angesehen wurde. Zur Kontrolle wurden Plasma und hitzedenaturierte Plasmaextrakte von 19 normalen Spendern verwendet. Am empfindlichsten reagierten hungernde Ratten auf die Injektion von unverändertem Anämieplasma. In 12 von 19 Fällen war die Reaktion positiv. Die Hitzedenaturierung verminderte den Erythropoetiningehalt im Durchschnitt um mehr als die Hälfte.

RUHENSTROTH-BAUER⁽³⁷⁾ nahm an, daß die Bildungsstätte des Erythropoetins im Versorgungsbereich der A. descendens gelegen sei, während JACOBSON und Mitarb. die Nieren für die Erythropoetinbildung verantwortlich machten. Sie konnten nach Hypophysektomie, Splenektomie, Adrenalektomie und Gonadektomie noch eine reaktive Erythropoesesteigerung nachweisen, die nach Entfernung beider Nieren nicht mehr möglich war. NAETS^(32, 33) kam bei nephrektomierten Hunden zu ähnlichen Ergebnissen. Hieraus wurde geschlossen, daß die Niere für die Bildung oder Aktivierung des Wirkstoffs Erythropoetin verantwortlich ist.

FRIED, PLZAK, JACOBSON und GOLDWASSER⁽¹⁰⁾ untersuchten die Faktoren, welche die Erythropoetinproduktion beeinflussen. Es zeigte sich, daß bei hypophysektomierten Ratten, bei hoher O₂-Konzentration der Atemluft, bei Auszehrung und einer durch Transfusion induzierten Polyglobulie eine Verminderung der Erythropoeserate erfolgte, die sich durch Injektion des Plasmas anämischer Versuchstiere oder Patienten wieder deutlich steigern ließ. Diese reaktive Erythropoesesteigerung benutzten GOLDWASSER⁽¹³⁾ und Mitarb. als Test zur Bestimmung der Erythropoetinität, indem sie bei Ratten durch Hypophysektomie, Hungern oder wiederholte Transfusionen von Erythrocyten die Neubildung der Erythroblasten hemmten und in diesem Zustand die Injektion des zu testenden Plasmas vornahmen. Die hierauf einsetzende Steigerung der Erythropoese konnte mittels Einbau des Radioeisens in die roten Blutkörperchen bzw. anhand der Reticulocytenvermehrung im peripheren Blut gemessen werden.

Weitere Versuche von GURNEY und GOLDWASSER⁽¹⁷⁾ mit menschlichem Plasma sowie die Untersuchungen von PRENTICE und MIRAND⁽³⁵⁾, die bei 9 Patienten mit Anämie verschiedener Ätiologie (4 Karzinome, 3 Lymphadenosen, 1 Myeloblastenleukämie und 1 familiärer hämolytischer Ikterus) durchgeführt worden sind, konnten die Existenz eines erythropoetisch wirksa-

men Faktors im Plasma dieser anämischen Patienten bestätigen.

Auch LÜTHI und KELLER⁽²⁹⁾ gelang es, bei Blutungsanämien eine erythropoetisch wirkende Substanz im Blute nachzuweisen. Es wurde Plasma von Patienten mit Blutungsanämie weißen Ratten intraperitoneal injiziert (2 ml pro 100 g Körpergewicht), hierauf stieg die Reticulocytenzahl der Tiere bis zum 3. bis 4. Tag post injektionem auf Werte an, die 50 bis 140 % über dem Ausgangswert lagen, und fiel bis zum 7. Tage wieder allmählich zur Norm ab. Es war gleichgültig, ob das Plasma sauerstofffrei gehalten oder mit Sauerstoff durchperlt wurde. KELLER⁽²³⁾ konnte auch im Blut von Patienten mit Polycythaemia vera einen erythropoetisch wirksamen Faktor nachweisen, der jedoch sauerstoffempfindlich war. Der Versuch wurde bei Ratten durchgeführt, die nach Injektion von 2 ml Patientenplasma pro 100 g Körpergewicht mit einem Anstieg der Reticulocyten- und Erythrocytenwerte reagierten. Nach Oxydation war das Plasma nicht mehr wirksam, erlangte aber nach Zusatz von Redoxon seine alte erythropoetische Aktivität wieder. Nach Einfrieren des Plasmas ist ein geringer Aktivitätsverlust festgestellt worden, Erhitzen auf 70°C hat den Faktor nicht zerstört. CONTOPoulos, COOMBS, LAWRENCE und SIMPSON⁽³⁾ haben ebenfalls eine gesteigerte erythropoetische Aktivität im

Plasma von Patienten mit Polycythaemia vera und sekundärer Polycythaemia nachgewiesen. Die Versuche von KORST, WHALLEY und BETHELL⁽²⁴⁾ zeigten, daß sich durch die subkutane Injektion von Plasma, das von Patienten mit primärer und sekundärer Polycythaemie gewonnen wurde, bei Ratten der Eisenstoffwechsel, gemessen mit Fe^{59} , erheblich steigern läßt. Die durchschnittliche erythropoetische Aktivität ist bei beiden Polycythämieformen größer als bei Normalpersonen, jedoch geringer als bei Anämiepatienten.

GALLAGHER, Mc CARTHY, HART und LANGE⁽¹²⁾ bestätigten, daß bei gewissen chronischen Anämien ein die Erythropoese stimulierender Faktor im Plasma nachgewiesen werden kann, was ihnen bei 15 von 16 anämischen Kranken mit Urämie nicht gelang.

ERSLEV⁽⁸⁾ untersuchte die Wirkung zeitlich begrenzter anämischer bzw. hypoxämischer Zustände auf die Erythropoese. Bei den anämischen Tieren konnte bereits 6 Stunden nach der experimentell erzeugten Anämie eine Erythropoese Steigerung nachgewiesen werden, während die Ratten, die 3 bis 6 Stunden der Hypoxie ausgesetzt waren, nicht mit einem merklichen Reticulocytenanstieg reagierten. Dieser trat erst nach längerdauerndem Sauerstoffmangel (48 Stunden) ein, er war jedoch niedriger als bei den anämischen Tieren. Die Reticulocytenvermehrung hielt

bei anämischen Tieren etwa 5 Tage lang an. GORDON, PILI-
ERO, MEDICI, BEN PANSKY, LUHBY, SIEGEL und TANNENBAUM
(16) konnten bei Ratten und Kaninchen, die durch Phenyl-
hydrazin anämisch gemacht worden sind, eine Steigerung
der Erythropoeseaktivität im Serum und auch in Serumex-
trakten, die durch Kochen bei pH 5,5 gewonnen worden wa-
ren, feststellen, indem sie Serum bzw. die Serumextrakte
erwachsenen Ratten injizierten und damit einen Reticulo-
cytenanstieg auslösten.

GURNEY, GOLDWASSER, JACOBSON, FRIED und PLZAK⁽¹⁴⁾ haben
über den Mechanismus der erythropoetischen Wirkung des Ko-
balts und die physiologische und klinische Bedeutung des
Erythropoetin folgendes beschrieben: Erythropoetin ist ein
die Erythropoese stimulierendes Hormon, dessen Produktion
vom Sauerstoffgehalt bzw. Sauerstoffdruck im Knochenmark
abhängig ist. Die Bestimmung erfolgt indirekt durch Mes-
sung der Fe^{59} -Inkorporierung in die Erythrocyten 16 Stun-
den nach Injektion einer "tracer"-Dosis von Fe^{59} . Kobalt-
gaben vermehrten den Plasmagehalt an Erythropoetin, eben-
falls die Übertragung des Plasmas anämischer Patienten.
ERIDANI, TAGLIORETTI und ROVERSI⁽⁶⁾ prüften den erythro-
poetischen Plasmafaktor auf folgende Weise: Serum von Ka-
ninchen, die durch Phenylhydrazin anämisch gemacht worden
waren, wurde erwachsenen Ratten bzw. 48 Stunden bebrüte-
ten Kührnerembryonen injiziert. Bei den Ratten wurde fort-

laufend Blut und nach 8 Tagen Knochenmark untersucht. Durchweg stiegen Hämoglobin und Erythrocytenzahl signifikant an. Als Kontrollen dienten Ratten, die mit normalem Kaninchenserum behandelt worden waren. Im Knochenmark der mit Anämieserum behandelten Ratten ließ sich eine deutliche Vermehrung der Erythroblasten nachweisen. Im Herzblut der Hühnerembryonen erhöhte sich der Mitoseindex (Zahl der Teilungsfiguren auf 1 000 Zellen). MATOTH, BENPORATH und MENZER⁽³⁰⁾ haben den Einfluß des Erythropoetins auf die Mitoserate von Erythroblasten in Knochenmarkkulturen nachgewiesen. Sie bestimmten nach Hemmung der Zellteilung durch Colchizin die Zahl der Mitosen, die eindeutig von der Konzentration des Anämieserums abhängig war. Je größer die Erythropoetinaktivität war, desto mehr Erythroblastenmitosen konnten in der Knochenmarkkultur nachgewiesen werden.

Zu therapeutischen Zwecken wurde die Erythropoetinwirkung bisher noch nicht ausgenutzt. Es wäre aber denkbar, daß sich bestimmte Formen der aplastischen bzw. hypoplastischen Anämie, die sich als therapieresistent erweisen, durch Zufuhr von erythropoetisch wirksamen Serumfraktionen günstig beeinflussen lassen. STOHLMAN und BRECHER⁽³⁸⁾ haben derartige Versuche bei Ratten durchgeführt. Sie konnten nach subletaler Bestrahlung durch Injektion von Plasma, das von anderen anämisch gemachten Ratten stammte, eine signifikante

Steigerung der Erythropoese auslösen. Vielleicht ließe sich auch bei Menschen mit eiweißfreien Plasmaextrakten eine ähnliche Wirkung auf die nach cytostatischer Behandlung oder unter dem Einfluß ionisierender Strahlen auftretenden Anämien erzielen.

Aufgrund der bisher im Schrifttum mitgeteilten Beobachtungen läßt sich aussagen, daß bei Anämien, insbesondere nach schweren Blutungen oder hämolytischen Prozessen, ein erythropoetisch wirksamer Faktor im Blut auftritt, der die Erythropoese so lange stimuliert, bis der normale Erythrocytenbestand wieder erreicht ist. Nicht immer entspricht die Erythropoetinaktivität jedoch dem Grad der Anämie. GURNEY, JACOBSON und GOLDWASSER⁽¹⁸⁾ war aufgefallen, daß bei Patienten mit hypo- bzw. aplastischer Anämie, die durch eine Verminderung der Erythroblasten im Knochenmark charakterisiert ist, die erythropoetische Aktivität des Plasmas am größten war. Diese Beobachtung wirft die Frage auf, ob das Erythropoetin bei gesteigerter Erythropoese von den Erythroblasten vermehrt verbraucht wird.

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, beim Kaninchen zu prüfen, welche Beziehungen zwischen Erythroblastenvermehrung nach Aderlaßanämie und der erythropoetischen Aktivität des Serums bestehen.

Methodik

Die Versuche wurden an Kaninchen sowie weiblichen weißen Mäusen, die als Testtiere dienten, durchgeführt. 20 Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 2,5 bis 3 kg wurden durch Aderlaß anämisch gemacht. Am ersten Tag wurden jedem Kaninchen ca. 40 ml Blut aus dem Ohr und am zweiten und dritten Tag etwa die gleiche Menge in Evipan-Narkose (10 ml einer 1 %-igen Evipanlösung) durch Herzpunktion entnommen (siehe Tabelle 1). Nach der Blutentnahme am zweiten und dritten Tag erhielt jedes Kaninchen 20 ml physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal, um den Flüssigkeitsverlust schneller auszugleichen. Das am ersten Tag entnommene Blut wurde zentrifugiert und das Serum in der Tiefkühltruhe bis zum Testen eingefroren. 5 Kaninchen starben am 4. Tag infolge der Herzpunktion. Vom 5. Tag an wurden täglich 2 Kaninchen nach vorheriger Bestimmung der Blutbildwerte (Hämoglobin, Erythrocyten, Leucocyten, Reticulocyten) in Evipan-Narkose nach Eröffnung des Brustkorbes durch Herzpunktion entblutet. Anschließend wurde der linke Femur freigelegt und exartikuliert. Nach Eröffnung der Markhöhle wurden je 2 Tupfpräparate mit dem Knochenmark aus dem Bereich beider Epiphysen und die Diaphyse angefertigt, die wie die Sternalpunktate in der üblichen Weise nach PAPPENHEIM

gefärbt wurden. Die Auszählung erfolgte nach dem von ROHR angegebenen Schema, wobei die Erythroblasten jeweils auf 100 weiße Knochenmarkzellen bezogen wurden. Bei mehreren Tieren wurden außerdem Serumeisenbestimmungen nach der Tötung vorgenommen.

Die Testung der Erythropoetinaktivität des Kaninchenserums erfolgte an der übertransfundierte polycythämische Maus. Zur Vorbereitung der Testtiere wurden insgesamt 100 weiße weibliche jugendliche Mäuse durch intraperitoneale Injektion gewaschener Mäuseerythrocyten polycythämisch gemacht. Als Blutspender dienten ausgewachsene Mäuse des gleichen Stammes, die in Äthernarkose durch Dekapitieren entblutet wurden. Nach dreimaligem Waschen der in ACD-Stabilisatorlösung aufgefangenen Erythrocyten mit physiologischer Kochsalzlösung wurden den Testmäusen an 4 aufeinanderfolgenden Tagen 0,5 ml Erythrocytensuspension, deren Hämatokrit etwa 50 % betrug, intraperitoneal injiziert. Die Mäuse wurden in 16 Gruppen zu je 6 Tieren aufgeteilt und erhielten vom 7. bis zum 10. Tag 0,5 ml Kaninchenserum subkutan. Am 7. und 9. Tag wurde außerdem nochmals 0,5 ml Erythrocytensuspension injiziert, um den Zustand der Polyglobulie aufrecht zu erhalten. Zur Reticulocytenzählung wurden am 7. und am 11. Tag Ausstriche aus dem Schwanzblut angefertigt und mehrfach Mikrohämatokrit-

Tabelle 1

Kan.	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1	40 ml	40 ml	25 ml
2	40 "	40 "	25 "
3	40 "	20 "	30 "
4	40 "	25 "	25 "
5	40 "	40 "	30 "
6	40 "	40 "	40 "
7	40 "	40 "	40 "
8	40 "	22 "	24 "
9	40 "	40 "	20 "
10	40 "	40 "	40 "
11	40 "	40 "	40 "
12	40 "	40 "	20 "
13	40 "	40 "	25 "
14	40 "	40 "	35 "
15	40 "	40 "	40 "
16	40 "	40 "	30 "
17	40 "	40 "	40 "
18	40 "	40 "	20 "
19	40 "	40 "	20 "
20	40 "	40 "	20 "

bestimmungen durchgeführt, die nach der 4. Erythrocyteninfusion einen Anstieg auf etwa 70 % erkennen liessen. Zur Kontrolle erhielt die Mäusegruppe 19 lediglich normales Mischserum, das vom 1. Aderlaß der Kaninchen 1 bis 20 stammte. Das folgende Schema (Tabelle 2) gibt in übersichtlicher Form die Versuchsanordnung der Erythropoetintestung an der polycythämischen Maus wieder

Tabelle 2

Tag	Ery-Suspension intraperitoneal	Kaninchen-Serum subkutan
1	0,5 ml	--
2	0,5 "	--
3	0,5 "	--
4	0,5 "	--
7	0,5 "	0,5 ml
8	--	0,5 ml
9	0,5 "	0,5 ml
10	--	0,5 ml

Ergebnisse

Das Verhalten des peripheren Blutbildes des Kaninchens nach Aderlaß

Zwei Tage nach dem letzten Aderlaß wurden täglich 2 Kaninchen zur Untersuchung getötet. Es zeigte sich, daß die Erythrocyten- und Hämoglobinwerte stark abgesunken waren. Am deutlichsten war der Abfall bei den Tieren K1 und K2. Infolge der nach dem Blutentzug eintretenden Erythropoesesteigerung kam es zu einer Reticulocytenausschwemmung aus dem Knochenmark in das periphere Blut, die am stärksten vom 3. bis 6. Tag nach dem letzten Aderlaß ausgeprägt war. Mit zunehmendem Anstieg der Erythrocyten- und Hämoglobinwerte nahm die Vitalgranulierung der Erythrocyten ab, bis schließlich nach Normalisierung des roten Blutbildes am 10. Tag nur noch 7 % Reticulocyten im peripheren Blut vorhanden waren (siehe Tabelle 3). Der Serumeisenspiegel lag, abgesehen von einer Ausnahme, im Normbereich oder nur gering darunter.

Tabelle 3

Peripheres Blut

Kan.	Datum	Ery. Mill.	Leuco- cyten	Hb. g%	Retic. ‰	Eisen gamma%
1	2.4.62	0,96	8,200	5,7	82	188,0
2	2.4.62	1,21	11,500	6,8	66	51,4
3	3.4.62	3,63	8,000	10,66	145	75,2
4	3.4.62	3,41	3,600	10,7	137	93,5
5	4.4.62	3,37	5,100	10,32	143	98,2
6	4.4.62	2,88	5,500	8,28	120	77,9
8	5.4.62	4,07	8,200	8,44	48	68,8
9	5.4.62	1,42	11,000	5,04	136	--
10	6.4.62	3,29	7,100	9,18	104	119,2
11	6.4.62	2,73	4,350	6,4	159	91,7
12	7.4.62	3,12	4,250	12,16	86	--
14	7.4.62	3,56	5,400	12,5	71	--
15	9.4.62	4,19	9,300	11,36	44	--
16	9.4.62	4,62	9,350	11,2	45	--
18	10.4.62	5,65	6,800	13,44	7	--

Das Verhalten des Knochenmarkes des Kaninchens nach Aderlaß

In Übereinstimmung mit der Reticulocytose im peripheren Blut fand sich im Knochenmark der Tiere eine deutliche Steigerung der Erythropoese, die meist 100 % überstieg. Lediglich bei Kaninchen 18, dessen Blutbild sich zum Zeitpunkt der Tötung wieder vollkommen normalisiert hatte, wurden 40,6 Erythroblasten pro 100 weisse Knochenmarkzellen ausgezählt. Der Hauptanteil der Erythroblastenvermehrung entfiel auf die basophilen Normoblasten; in geringerem Umfang war auch eine Zunahme der polychromatischen Normoblasten feststellbar (Tabelle 4).

Die Wirkung des Serums anämischer Kaninchen auf die Erythropoese der polycythämischen Maus

Durch intraperitoneale Injektion gewaschener Mäuseerythrocyten wurden die Testmäuse polycythämisch gemacht, um auf diese Weise die Erythropoese nahezu vollkommen zu hemmen, so daß die Reticulocyten dieser Tiere weitgehend aus dem peripheren Blut verschwanden. Der Hämatokrit der Mäuse stieg auf 68 bis 70 % an und blieb bis zum Versuchsende erhöht. Nach vier-maliger Injektion

Tabelle 4

Kan.	Lympho- ide Re- ticulum- zellen	Proery- thro- blasten	Makro- blasten	Normoblasten		
				baso- phile	poly- chroma- tische	oxy- phile
1	1,3	0,1	4,0	23,1	14,0	12,0
2	1,0	0,8	5,0	28,5	14,3	19,5
3	1,8	1,3	4,8	35,8	10,0	14,1
4	1,8	--	3,5	20,3	11,5	10,6
5	1,5	1,3	5,9	28,3	12,0	15,6
6	1,6	0,8	7,4	36,0	19,3	7,6
8	1,6	--	5,5	19,3	15,1	8,6
9	1,5	0,8	5,5	21,8	12,0	6,6
10	0,5	0,8	5,3	25,3	13,6	21,5
11	0,8	0,1	4,1	25,5	14,1	14,8
12	1,5	1,0	6,6	22,8	13,0	18,1
14	1,8	2,0	7,1	25,0	13,0	14,5
15	1,5	0,5	4,1	22,1	18,3	18,5
16	1,8	1,1	8,1	20,8	15,1	18,0
18	0,6	0,3	4,5	8,0	9,8	18,0

von je 0,5 ml Kaninchenserum unter die Rücken-
haut der polycythämischen Mäuse erfolgte ein Anstieg der
Reticulocytenwerte, der nach Injektion der gleichen
Menge physiologischer Kochsalzlösung nicht eintrat.
Mit normalem Kaninchenserum wurde ein Reticulocyten-
wert von 6,4 ‰ erreicht, während nach Injektion des
Serums anämischer Kaninchen die Reticulocytenwerte bis
22 ‰ anstiegen. In den folgenden Tabellen sind die
hämatologischen Befunde der einzelnen Kaninchen jeweils
den dazugehörigen Mäusegruppen, an denen das betreffen-
de Kaninchenserum getestet wurde, vorangestellt.

K 1

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
5,7	0,96	82	53,2

M 1

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,5
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		--	22,7

K 2

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
6,8	1,2	66	68,1

M 2

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,0
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	18,3

K 3

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
10,66	3,6	145	66

M 3

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	0,7
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	15,3

K 4

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
10,7	3,4	137	45,9

M 4

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,8
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	19,3

K 5

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
10,32	3,37	143	63,1

M 5

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	0,7
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	17,7

K 6

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
8,28	2,8	120	71,1

M 6

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,8
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	22,3

K 8

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
8,44	4,07	48	48,4

M 8

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,7
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	13,3

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	K 9	
		Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
5,04	1,4	136	46,7

Tag	Blut	M 9	
		Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	2,0
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	20,8

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	K 10	
		Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
9,18	3,2	104	66,5

Tag	Blut	M 10	
		Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,3
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	16,5

K 11

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
6,4	2,7	159	58,6

M 11

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,0
2		0,5	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	21,3

K 12

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
12,16	3,12	86	61,4

M 12

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	0,7
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	16,0

K 14

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
12,5	3,56	71	61,6

M 14

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,3
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		0,5 ml	16,3

K 15

Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
11,36	4,1	44	63,4

M 15

Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	0,7
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		--	15,3

K 16			
Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
11,2	4,6	45	63,1

M 16			
Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,3
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		--	15,7

K 18			
Hb g%	Erythro- cyten Mill.	Reticulo- cyten ‰	Erythro- blasten
13,44	5,6	7	40,6

M 18			
Tag	Blut	Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	1,7
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		--	13,0

Kontrolle (Mischserum K 1 - K20)

Tag	Blut	M 19	
		Serum	Reticulo- cyten
1	0,5 ml	0,5 ml	0,3
2		0,5 ml	
3	0,5 ml	0,5 ml	
4		0,5 ml	
5		--	6,4

Tabelle 5 enthält die Reticulocytenmittelwerte der Mäusegruppen vor und nach der Injektion des Kaninchenserums.

Die Tabellen lassen erkennen, daß sich mit dem Serum der Kaninchen, die wenige Tage nach dem Aderlaß getötet worden waren, der größte Reticulocytenanstieg bei der polycythämischen Maus erzielen ließ. Mit zunehmender Regeneration des roten Blutbildes wurde die erythropoetische Wirkung des Serums geringer. So bewirkte die Injektion des Serums von Kaninchen 18, bei dem sich die Erythrocytenwerte inzwischen vollkommen normalisiert hatten, nur noch eine unbedeutende Reticulocytose von 13 %. Der Reticulocytenanstieg nach der Seruminjektion läßt also Rückschlüsse auf die Erythro-

Tabelle 5

Kaninchen- serum	Mäusereticulocyten ‰	
	vor Injektion	nach Injektion des Kaninchenserums
K 1	1,5	22,7
K 2	1,0	18,3
K 3	0,7	15,3
K 4	1,8	19,3
K 5	0,7	17,7
K 6	1,8	22,3
K 8	1,7	13,3
K 9	2,0	20,8
K 10	1,3	16,5
K 11	1,0	21,3
K 12	0,7	16,0
K 14	1,3	16,3
K 15	0,7	15,3
K 16	1,3	15,7
K 18	1,7	13,0
Kontrolle (Normalserum K 1 - K 20)	0,3	6,4

Tabelle 6

Tier Nr.	Kan.-Erythro- blasten	Mäuse-Reticulocyten in ‰ nach Injektion des Kaninchen-Serums
K 1	53,2	22,7
K 2	68,1	18,3
K 3	66,0	15,3
K 4	45,9	19,3
K 5	63,1	17,7
K 6	71,1	22,3
K 8	48,4	13,3
K 9	46,7	20,8
K 10	66,5	16,5
K 11	58,6	21,3
K 12	61,4	16,0
K 14	61,6	16,3
K 15	63,4	15,3
K 16	63,1	15,7
K 18	40,6	13,0
Kontrolle (Normalserum K 1 - K 20)	--	6,4

poetinaktivität des getesteten Serums zu.

Auswertung der Versuchsergebnisse

Es erhebt sich nun die Frage, welche Beziehungen zwischen dem Grad der Anämie (Tabelle 3) bzw. der Zahl der Erythroblasten der Kaninchen (Tabelle 4) und den Retikulozytenwerten der Testmäuse bestehen.

Hierzu war es notwendig, die Versuchsergebnisse mit Hilfe der Korrelations- und Regressionsrechnung auszuwerten.

Der Korrelationskoeffizient

Der Korrelationskoeffizient r ist eine statistische Maßzahl, die es erlaubt, den zahlenmäßigen Zusammenhang zweier variabler zu erfassen. Er kann schwanken zwischen -1 und $+1$. Besteht zwischen zwei Variablen kein Zusammenhang, so ist $r = 0$. Je stärker die Beziehung zwischen beiden Variablen ist, desto mehr nähert sich r dem Wert 1 . Ist die Änderung der beiden Variablen gleichgerichtet, d. h. führt eine Vergrößerung der einen zu einer Vergrößerung der anderen Variablen, dann ist der Korrelationskoeffizient positiv. Führt die Vergrößerung der einen Variablen zu einer Verminderung der anderen, dann ist r negativ. Bei strenger Abhängigkeit zwischen beiden Größen ist $r = -1$ oder $+1$.

Bei der Berechnung geht man von der Hypothese aus, daß zwischen beiden Variablen keine Abhängigkeit besteht (Nullhypothese). Der berechnete Korrelationskoeffizient erlaubt dann zu beurteilen, wie groß die Wahrscheinlichkeit P ist, daß durch Zufall eine derartige oder im Sinne der Abhängigkeit noch extreme Anordnung der Einzelwerte zu erwarten ist.

Ist diese Wahrscheinlichkeit klein, d.h. kleiner als 1 % ($P < 0,01$), dann kann die Nullhypothese abgelehnt werden, und eine zahlenmäßige Abhängigkeit zwischen den Werten angenommen werden.

Liegt die Wahrscheinlichkeit P zwischen 5 % und 1 % ($0,05 > P > 0,01$), wird der Korrelationskoeffizient als auffällig bezeichnet, die Interpretation muß mit Zurückhaltung erfolgen.

Für die Berechnung des Korrelationskoeffizienten wird die Summe der Abweichungsquadrate der Variablen, d.h. die Summe der Quadrate der Einzelabweichungen vom Mittelwert der Variablen benötigt.

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad \bar{x} = \text{Mittelwert}$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 \quad x_i = \text{Einzelwert}$$

Weiterhin wird die Summe der Produkte der Einzelabweichungen von x und y benötigt.

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})$$

Der Korrelationskoeffizient r errechnet sich dann nach folgender Formel :

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_{xx} \cdot S_{yy}}}$$

Regressionskoeffizient und Regressionsgrade

Ist die zahlenmäßige Beziehung zwischen zwei Größen gesichert, dann läßt sich die Art der Abhängigkeit, d.h. die Änderung der y - Werte bei Änderung der x - Werte, in vielen Fällen in Form einer Geraden beschreiben. Diese Gerade wird als Regressionsgrade bezeichnet.

Die allgemeine Form der Geradengleichung lautet :

$$Y = b_x + a$$

b ist die Steigung der Geraden, a der Schnittpunkt der Geraden mit der y - Achse, d.h. der Wert der Gleichung für $x = 0$.

b wird auch als Regressionskoeffizient bezeichnet. Der Regressions-

Koeffizient b wird nach folgender Formel berechnet :

$$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}}$$

Partielle Korrelation

Eine gesicherte Korrelation zwischen zwei Variablen erlaubt noch nicht, auf einen kausalen Zusammenhang zwischen beiden Variablen zurückzuschließen. Es gibt eine ganze Reihe von Faktoren, die diese Zusammenhänge vortäuschen können. (s. Koller S 1002). Eine dieser Möglichkeiten ist, daß beide Variablen mit einer dritten Variablen korreliert sind.

Dann sind sie meist auch untereinander korreliert, ohne daß ein wirklicher sachlicher Zusammenhang zwischen den beiden bestehen muß. Die Berechnung des sog. partiellen Korrelationskoeffizienten erlaubt es, die Korrelation zwischen zwei Variablen zu beurteilen, wenn die dritte konstant gehalten wird.

Ist diese Variable entscheidend für die Korrelation zwischen den betrachteten Variablen, dann wird bei Konstanthaltung dieser Variablen die Korrelation verschwinden. Hat sie keinen Einfluß, dann ändert sich der partielle Korrelationskoeffizient nur geringfügig gegenüber dem einfachen Korrelationskoeffizienten.

Für die Auswertung ist es deshalb an einigen Stellen erforderlich, neben dem einfachen Korrelationskoeffizienten auch den partiellen Korrelationskoeffizienten zu bestimmen. Dieser errechnet sich nach folgender Formel :

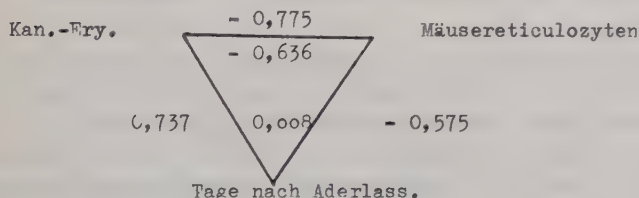
$$r_{xy \cdot z} = \frac{r_{xy} - r_{xz} \cdot r_{yz}}{\sqrt{(1 - r_{xz}^2)(1 - r_{yz}^2)}}$$

Als Beispiel sei die Korrelation zwischen den Mäusereticulozyten und den Tagen nach Injektion angeführt, für die der einfache Korrelationskoeffizient auffällig ist. Hält man jedoch Hämoglobin oder Erythrozytenwert konstant, dann verschwindet diese Korrelation.

Dagegen ändert sich die Korrelation zwischen Hämoglobin oder Erythrozyten und den Mäusereticulozyten nicht, wenn die Tage nach der Injektion konstant gehalten werden, d. h. , die Korrelation zwischen Mäusereticulozyten und Tagen nach der Injektion kommt nur dadurch zustande, daß die Tage nach der Injektion gleichzeitig mit Hämoglobin bzw. Erythrozyten korreliert sind.

Darstellung der partiellen Korrelationskoeffizienten

Die partiellen Korrelationskoeffizienten unter Konstanthaltung eines Faktors können übersichtlich in Form eines Dreiecks dargestellt werden. Die Ecken markieren die einzelnen Faktoren. Auf der Außenseite werden die einfachen, innen die partiellen Korrelationskoeffizienten aufgetragen, die sich bei Konstanthaltung des gegenüberliegenden Faktors ergeben.



Da die Zahl der Tiere bei allen Versuchsergebnissen gleich ist, ($n = 15$) können die Vertrauensgrenzen für die einfachen und die partiellen Korrelationskoeffizienten tabellarisch angegeben werden. Die Beziehung zwischen zwei Variablen ist bei 15 Tieren als gesichert anzusehen ($p < 0,01$), wenn bei

einfachen Korrelationskoeffizienten	$r > 0,63$
partiellen " " " (Konstant-	$r > 0,65$
haltung einer Variablen)	

Als auffällig ist r anzusehen ($0,05 > p > 0,01$), wenn bei

einfachen Korrelationskoeffizienten	$0,50 < r < 0,63$
partiellen " " " (Konstant-	$0,52 < r < 0,65$
haltung einer Variablen)	

I. Einfache (totale) Korrelationskoeffizienten

Zwischen den Kaninchenwerten und den Mäusereticulozyten ergeben sich folgende Beziehungen :

1. Blutentnahme - Mäusereticulozyten	$r = 0,3125$
2. Weißes Blutbild	
Leukozyten	$r = -0,0994$
3. Erythropoese (Knochenmark)	
a) Proerythroblasten	$r = -0,1872$
b) Makroblasten	$r = -0,1138$
c) basophile Normoblasten	$r = 0,4224$
d) polychromatische Normoblasten	$r = 0,2802$
e) oxyphile Normoblasten	$r = -0,4588$
f) Gesamtzahl der Erythroblasten	$r = 0,1281$
4. Rotes Blutbild (peripher)	
a) Kaninchenreticulozyten	$r = 0,6072$ ($0,05 > p > 0,01$)
b) Hämoglobin	$r = -0,7251$ $p < 0,01$
c) Erythrozyten	$r = -0,7751$ $p < 0,01$
5. Tage nach Blutentnahme	$r = -0,5749$ ($0,05 > p > 0,01$)

Nach den angeführten Vertrauensgrenzen sind lediglich die Beziehungen zwischen Hämoglobin bzw. Erythrozyten und den Mäusereticulozyten gesichert. Da die Korrelationskoeffizienten negativ sind, bedeutet es , daß die beobachtete Zahl der Mäusereticulozyten um so geringer ist, je höher der Hb.- Wert bzw. die Zahl der Erythrozyten im strömenden Blut ist.

Diese Korrelationskoeffizienten ändern sich bei Konstanzhaltung der anderen Faktoren nicht. Sie verschwinden lediglich, wenn Erythrozyten bzw. Hämoglobin konstant gehalten werden.

Die Beziehungen zwischen Kaninchenreticulozyten und Mäusereticulozyten sind auffällig. Der Korrelationskoeffizient ist positiv, d.h. die Änderung ist gleichgerichtet. Die Korrelation wird geringer, wenn Erythrozyten, Hämoglobin, Basophile Normoblasten oder Tage nach Blutentnahme konstant gehalten werden.

Sie ist gesichert, wenn die oxyphilen Normoblasten konstant gehalten werden.

Zwischen den Tagen nach der letzten Injektion und den Mäusereticulozyten besteht eine auffällige negative Korrelation, d.h.

die Zahl der Mäusereticulozyten nimmt mit zunehmender Zeit nach der Injektion ab. Diese Korrelation ist jedoch nur dadurch bedingt, daß Hämoglobin und Erythrozyten mit dem Tage nach Injektion korreliert sind. Werden diese konstant gehalten, so verschwindet die Korrelation zwischen Mäusereticulozyten und Tage nach Injektion.

Zwischen der Gesamtzahl der Erythroblasten und der Mäusereticulozyten läßt sich keine Korrelation sichern; Die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Gruppen der Erythroblasten zeigen, daß die Beeinflussung in unterschiedlichen Richtungen erfolgt. (Basophile Normoblasten und polychromatische Normoblasten positiv, Proerythroblasten, Makroblasten und oxyphile Normoblasten negativ) . Diese gegensätzlichen Einflüsse heben sich bei der Gesamtzahl auf, so daß keine Korrelation der Gesamtzahl der Erythroblasten und den Mäusereticulozyten zu erwarten ist.

II. Partielle Korrelationskoeffizienten

Nach Konstanthaltung eines Faktors ändern sich folgende Korrelationskoeffizienten.

1. Blutentnahme - Mäusereticulozyten

Zwischen diesen beiden Faktoren ergibt sich ein stark auffälliger Korrelationskoeffizient ($r = 0,6251$), wenn der Zeitfaktor (Tage nach Aderlass) konstant gehalten wird. Das heißt, daß die Zahl der Mäusereticulozyten um so höher ist, je mehr Blut von Kaninchen entnommen wurde.

2. Zwischen basophilen Normoblasten und Mäusereticulozyten ergibt sich eine auffällige Korrelation, ($r = 0,5654$) wenn die Proerythroblasten konstant gehalten werden.
3. Zwischen oxyphilen Normoblasten und Mäusereticulozyten ist die Korrelation gesichert, ($r = 0,6431$) wenn die Blutentnahme konstant gehalten wird.
4. Zwischen Kaninchenreticulozyten und Mäusereticulozyten ist die Korrelation gesichert, wenn die polychromatischen Normoblasten konstant gehalten werden. Die Korrelation verschwindet jedoch, wenn Hämoglobin, Erythrozyten oder Tage nach Aderlass konstant gehalten werden.

Dieses Verhalten ist sehr leicht dadurch zu erklären, daß die Bildung der Kaninchenreticulocyten als auch Mäusereticulo-
cyten durch den gleichen Faktor bewirkt wird, beide hängen
jedoch nicht ursächlich miteinander zusammen.

Diskussion

Es wird heute allgemein angenommen, daß die Erythropoese im wesentlichen durch einen humoralen Mechanismus gesteuert wird. CARNOT und DEFLANDRE hatten bereits 1906 diese Vermutung geäußert, den Beweis für die Existenz des erythropoetischen Wirkstoffs, der nach Vorschlag von BONSDORFF und JALAVISTO Erythropoetin genannt wird, konnte jedoch erst Jahrzehnte später von REISSMANN erbracht werden, der im Parabioseversuch bei Ratten durch Erniedrigung des O_2 -Gehaltes der Atemluft des einen Partners eine Steigerung der Erythropoese bei beiden Parabiosetieren nachweisen konnte. Die chemische Natur des Wirkstoffs ist noch nicht restlos aufgeklärt. JACOBSON, GURNEY und GOLDWASSER vermuten, daß es sich um ein alpha-2-Glykoprotein handelt, das wahrscheinlich in der Niere gebildet wird.

Bei unseren Versuchen, die zum Ziel hatten, die Frage zu klären, ob bei gesteigerter Erythropoese durch die Knochenmarkerythroblasten vermehrt Erythropoetin verbraucht wird, haben wir die Kaninchen durch Aderlaß anämisch gemacht und auf diese Weise eine reaktive Steigerung der Erythropoese mit Vermehrung der Knochenmarkerythroblasten und der Reticulocyten hervorgerufen. Der Reticulocytenanstieg setzte ungefähr vier Tage nach dem ersten Aderlaß ein und hielt etwa acht Tage lang

an. Im Knochenmark war eine Zunahme der Erythroblasten auf das Doppelte der Norm nachweisbar, die sich bis zur Normalisierung des roten Blutbildes nur geringgradig zurückbildete.

Der Nachweis der Erythropoetinaktivität eines Serums ist bisher nur im biologischen Test möglich. Meist wurde die hypophysektomierte oder hungernde Ratte als Testobjekt benutzt und bei ihr die Erythropoesesteigerung nach Injektion des zu testenden Serums mittels Radioeiseninkorporation in die Erythrocyten gemessen. In jüngster Zeit konnten JACOBSON, GOLDWASSER und GURNEY^(20, 22) zeigen, daß die polycythämische Maus das ideale Versuchstier für die Erythropoetintestung ist. Durch wiederholte intraperitoneale Injektion gewaschener Mäuseerythrocyten läßt sich bei ihr die Erythropoese so weitgehend hemmen, daß die Reticulocyten fast vollständig aus dem peripheren Blut verschwinden und im blutbildenden Gewebe kaum noch Erythroblasten vorhanden sind. Da sich durch Erythropoetininjektion diese Erythropoesehemmung durchbrechen läßt, kann anhand des nun einsetzenden Reticulocytenanstiegs die erythropoetische Aktivität des injizierten Serums bestimmt werden. In zahlreichen Versuchen wurde von FRIEDERICI⁽¹¹⁾ diese Beobachtung bestätigt. Beim Vergleich der eigenen Versuchsergebnisse mit den von GOLDWASSER und

GUERNEY mitgeteilten Befunden läßt sich eine weitgehende Übereinstimmung feststellen. Bei allen durch Erythrozyteninjektion polycythämisch gemachten Mäusen waren die Reticulozyten weitgehend aus dem peripheren Blut verschwunden. Die Mittelwerte der einzelnen Versuchsgruppen schwankten zwischen 0,3 und 2 %. Nach Injektion des Serums der anämischen Kaninchen erfolgte regelmäßig ein deutlicher Anstieg der Mäusereticulozyten auf 16 bis 20 %, während sich nach Gaben von normalem Kaninchenserum (Mischserum der Kaninchen 1 bis 20 , das vom ersten Aderlass der Tiere stammte) die Reticulozytenwerte lediglich auf 6,4 % erhöhten. Hieraus kann gefolgert werden, daß das Serum der durch Aderlass anämisch gemachten Kaninchen eine gesteigerte erythropoetische Aktivität besitzt, die etwa sieben bis acht Tage annähernd gleich bleibt und dann mit zunehmender Normalisierung des roten Blutbildes geringer wird.

Eine Ausnahme macht Kaninchen 8, das nur eine geringgradige Erythropoetinaktivität erkennen ließ.

Bei diesem Tier waren aber auch im Knochenmark und im peripheren Blut nur geringe Zeichen einer gesteigerten Erythropoese erkennbar. Es bestand eine Eisenmangelanämie (Erythrozyten 4,07 Mill., Hämoglobin 8,4 g% , Serumeisen 68,8 gamma%) mit einer geringgradigen Vermehrung der Erythroblasten im Knochenmark (48 Erythroblasten pro 100 weiße Zellen) . Dementsprechend waren auch nur 48 % Reticulozyten im peripheren Blut nachweisbar, während bei Kaninchen 6 und Kaninchen 9 120 bzw. 136 % Reticulozyten gezählt werden konnten. Mit dem Serum von Kaninchen 18 , dessen Blutbild sich wieder normalisiert hatte (Erythrozyten 5,65 Mill., Hämoglobin 13,4 g% , Reticulozyten 7 %) , wurde verständlicherweise nur eine geringgradige Erythropoesesteigerung bei der polycythämischen Maus erzielt, da bekanntlich die erhöhte Erythropoetinaktivität nur so lange nachweisbar ist, als eine Anämie besteht.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen sich dahingehend deuten, daß nach Blutverlust vermehrt Erythropoetin vorhanden ist, das infolge

der Verminderung der im Blut kreisenden Erythrozyten zur Stimulierung der Erythropoese gebildet wird.

Es konnte keine sichere Abhängigkeit der Erythropoetinaktivität, gemessen an der Höhe des Reticulozytenspiegels der polycythämischen Maus, von der Gesamtzahl der Erythroblasten der anämischen Kaninchen festgestellt werden. Einzelne Gruppen der Erythroblasten zeigten jedoch auffällige Korrelationen in der Erythropoetinaktivität, wenn andere Einflußfaktoren konstant gehalten werden. So ist die Korrelation ~~Korrelation~~ zwischen oxyphilen Normoblasten und Mäusereticulozyten ($r = - 0,6431$) als gesichert anzusehen, wenn die Blutentnahme konstant gehalten wird.

Ein Absinken des Erythropoetinspiegels, etwa infolge eines vermehrten Verbrauchs durch die Knochenmarkerythroblasten ließ sich nicht nachweisen. Die Beobachtungen von GURNEY, JACOBSON und GOLDWASSER konnten beim Kaninchen nicht bestätigt werden. Diesen Autoren war aufgefallen, daß die größte Erythropoese Steigerung beim Testtier durch Serum erzielt werden konnte, das von Patienten mit hypoplastischer bzw. aplastischer Anämie stammte. Es wurde vermutet, daß die Erhöhung des Erythropoetinspiegels im Blut diese Patienten mit der fehlenden Erythroblastenvermehrung des Knochenmarkes in ursächlichem Zusammenhang steht. Andererseits soll bei gesteigerter Erythropoese vermehrt Erythropoetin von den Erythroblasten verbraucht werden, so daß dadurch der Blutspiegel des erythropoetischen Wirkstoffs absinkt, obwohl eine gesteigerte Erythropoese vorhanden ist.

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, einen Beitrag zur Klärung dieser Frage zu liefern. Die gewonnenen Ergebnisse sprechen nicht für ein Absinken des Erythropoetinspiegels bei gesteigerter Knochenmarkstätigkeit. Es fand sich vielmehr stets eine erhöhte erythropoetische Aktivität des Serums, wenn nach dem Aderlass eine Anämie mit gesteigerter Erythropoese bestand. Allerdings ließ sich keine sichere Abhängigkeit von der Gesamtzahl der Erythroblasten nach-

weisen. Dagegen war eine enge negative Korrelation mit den Erythrozyten und Hämoglobinwerten vorhanden.

Zusammenfassung

20 Kaninchen wurden durch Aderlass anämisch gemacht, 5 davon starken am 4. Tag infolge der Herzpunktion.

Vom 5. Tage an wurden täglich 2 Kaninchen getötet und die Erythropoetinaktivität des Serums dieser Tiere an der polycythämischen Maus getestet. Über den jeweiligen Zustand der Erythropoese der Kaninchen gehen Blutbilduntersuchung und Knochenmarkbiopsie Aufschluß. Erythrozyten- und Hämoglobinwerte stiegen nach dem Aderlass allmählich wieder an und normalisierten sich am 12. bis 13. Tag. Am 4. Tag nach dem letzten Aderlass erreichte die Reticulozytose ihren Höhepunkt und war bis zum 9. u. 10. Tag deutlich nachweisbar. Das Knochenmark der Kaninchen enthielt infolge der reaktiven Erythropoesesteigerung vermehrt Erythroblasten, die etwa auf das Doppelte der Norm zugenommen hatten.

Im Serum der Kaninchen fand sich ein erythropoetisch wirksamer Faktor, der nach dem Aderlass in hoher Konzentration vorhanden war und mit Ansteigen der Hämoglobin- und Erythrozytenwerte wieder abnahm.

Ein Anhalt für einen vermehrten Verbrauch von Erythropoetin durch die Knochenmarkerythroblasten ergab sich nicht. Es bestanden keine gesicherten Beziehungen zwischen der Gesamtzahl der Erythroblasten und der Erythropoetinaktivität, gemessen an den Reticulozytenwerten der polycythämischen Maus.

Für die umfangreiche und mühevollen statistische
Auswertung und freundliche Unterstützung in meiner
Arbeit bin ich Herrn Dr. D u d e c k sehr zu Dank
verpflichtet.

Literatur

- 1) BONSDORFF, E., und Acta. Physiol. Scand. 16,
E. JALAVISTO: 150 (1948).
- 2) CARNOT, P., und C. R. Acad. Sci., Paris, 143,
C. DEFLANDRE: 384 (1906).
- 3) CONTOPOULOS, A.N., Blood 12, 614 - 619 (1957).
R. Mc. COOMBS, J.H.
LAWRENCE and M.E.
SIMPSON:
- 4) DELOR, J., und P. C. R. Soc. Biol., Paris, 149,
GLEY: 635 (1955).
- 5) EGLI, R., und Schweiz. Med. Wschr. 1060
H.M. KELLER: (1958).
- 6) ERIDANI, S., D. Haemat. Lat. (Milano) 2,
TAGLIORETTI und 439 - 448 (1959).
G.D. ROVERSI:
- 7) ERSLEV, A.J.: Blood 10, 954 (1955).
- 8) ERSLEV, A.J.: J. Labor. a. clin. Med. 50,
543 - 549 (1957).
- 9) FEENDERS, H.: Frankf. Z. Pathol. 49, 411
 (1936).
- 10) FRIED, W., L.PLZAK, Proc. Soc. Exoer. Biol. a
L.O.JACOBSON and Med. 94, 237 - 241 (1957).
E.GOLDWASSER:

- 11) FRIEDERICI, L.: Folia. haematol. (im Druck).
- 12) GALLAGHER, N.I., Mc Blood 14, 662 - 667 (1959).
 CARTHY, K.T. HART and
 R.D. LANGE:
- 13) GOLDWASSER, E., L.O. J. Labor. a. clin. Med. 52,
 JACOBSON und W. 375 (1958).
 FRIED:
- 14) GOLDWASSER, E., L.O. Blood 13, 55 - 60 (1958).
 JACOBSON, W. FRIED,
 and L.F. PLZAK:
- 15) GORDON, A.S. and Amer. J. Physiol. 107, 704
 M. DUBIN: (1934).
- 16) GORDON, A.S., S.J. Proc. 6th int. congr. int. Soc.
 PILTERO, P.T. MEDICI, Haemat. 643 - 655 (1958).
 BEN-PANSKY, A.L. LUHBY,
 Ch.D. SIEGEL and M.
 TANNENBAUM:
- 17) GURNEY, C.W., E. GOLD- J. Labor. a. clin. Med. 50,
 WASSER: 534 - 542 (1957).
- 18) GURNEY, C.W., L.O. Ann. Inter. Med. 49, 363
 JACOBSON and E. (1958).
 GOLDWASSER:
- 19) GURNEY, C.W. and J. Lab. clin. Med. 55, 67 - 72
 Ch. PAN: (1960).
- 20) GURNEY, C.W., N. Blood 17, 531 (1961).
 WACKMAN and E.
 FLMANOWICZ:

- 21) JACOBSON, L.O., E. Nature 179, 633 (1957).
GOLDWASSER, W.FRIED,
and L.F.PLZAK:
- 22) JACOBSON, L.O., E. Ciba Foundation Symposium on
GOLDWASSER and C.W. Haemopoiesis 1960, 423
GURNEY: (London).
- 23) KELLER, H.M.: Helvet. med. acta 24, 398 - 404
(1957).
- 24) KORST, D.R., E.WHAL- J. Lab. clin. Med. 54, 916
LEY and F.H.BETHELL: (1959).
- 25) LINMAN, J.W. and Blood, 11, 310 (1956).
F.H.BETHELL:
- 26) LINMAN, J.W. and J. Labor. a. clin. Med. 49,
F.H.BETHELL: 113 (1957).
- 27) LINMAN, J.W., F.H. J. Labor. a. clin. Med. 51,
BETHELL and M.J.LONG: 8 - 16 (1958).
- 28) LOESCHKE, E. und Monatssch. Kinderkl. 81, 25
K.SCHWARTZER: (1939).
- 29) LÜTHI, H. und H.M. Acta haematol. (Basel) 20,
KELLER: 277 - 287 (1958).
- 30) MATOTH, Y., BEN-PORATH, J. Lab. clin. Med. 54,
and E.MENZER: 722 - 727 (1959).
- 31) MORAWITZ, P.: Klin. Wschr. 1925, 7.

- 32) NAETS, J.P.: Nature 181, 1134 (1958).
- 33) NAETS, J.P.: Experientia 14, 74 (1958).
- 34) PRENTICE, T.C. and E.A.MIRAND: Exper. Med. a. Surgery 14, 226 (1956).
- 35) PRENTICE, T.C. and E.A.MIRAND: Blood 12, 993 - 997 (1957).
- 36) REISSMANN, K.R.: Blood 5, 372 (1950).
- 37) RUHENSTROTH-BAUER, G: V. Kongr. Europ. Ges. Hämatol. Freiburg 1955. Springer (1956) 221.
- 38) STOHLMAN, F. and G.BRECHER: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 91, 1 (1956).
- 39) STOHLMAN, F. and G.BRECHER: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 95, 797 - 800 (1957).
- 40) KOLLER, S. Hoppe-Seyler/Thierfelder, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 10.Aufl., Bd.II

L e b e n s l a u f

Am 24. August 1935 wurde ich, Mohammed Taghi Saidi Ghomi, als Sohn des Kaufmanns Abolghassem Saidi Ghomi in Teheran/Iran geboren. Von meinem 7. bis 13. Lebensjahr besuchte ich die Volksschule "Kakh" in Teheran, anschließend das Scharaf-Gymnasium, ebenfalls Teheran, an dem ich im Jahre 1955 die Reifeprüfung ablegte.

Nach Beendigung meiner Militärzeit begann ich mein Medizinstudium im Wintersemester 1958/59 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz, wo ich im September 1964 mit dem Staatsexamen mein Studium beendete.

Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent in Deutschland.

